

# 私立大学研究ブランディング事業

## 平成30年度の進捗状況

学校法人番号	251002	学校法人名	関西文理総合学園		
大学名	長浜バイオ大学				
事業名	フレキシブル植物工場システムと先端バイオ技術を基盤とした新たなグリーンイノベーション				
申請タイプ	タイプA	支援期間	5年	収容定員	960人
参画組織	バイオサイエンス学部、バイオサイエンス研究科				
事業概要	<p>本事業では、本学が構築したフレキシブル完全閉鎖型植物工場と本学が有する先端研究設備、トップレベルの研究技術を活用することで、長浜地域の伝承野菜である「尾上菜」の実用化技術の開発と長浜で生産されている脂肪代謝物質を含む「アイスプラント」とカルノシン酸を含有する「セージ」の高機能化技術の開発を行い、新たなグリーンイノベーションを長浜バイオ大学から発信することで、新事業展開や地域の産業振興に貢献する。</p>				
①事業目的	<p>本事業では、本学が構築したフレキシブル完全閉鎖型植物工場と本学が世界に誇る研究設備と研究実績を活用することで、これまで全く注目されてこなかった湖北地域特産の植物素材を活用するための実用化技術の開発を行い、新事業展開に寄与する新技術・新製品の創出を目指すことで、地域の産業振興に貢献することを目的とする。さらに、このような開発を通して、次世代シーケンサーを用いた全ゲノム解析やメタボローム解析、分子育種技術などを中核技術とした研究開発拠点を創出し、持続的な地域の産業振興への貢献を通して地域産業の活性化につなげたい。本事業による試みは、これまで多収・大量生産に支えられてきた日本の農業にも新たな可能性を提供し、農業分野における日本の国際的競争力強化に資するものとなる。</p> <p>本事業は、①「フレキシブル植物工場システムを用いた伝承野菜である尾上菜の系統解析と生理活性の評価による植物イノベーション」、②「フレキシブル植物工場で栽培したアイスプラントに含まれる生理活性の評価による食品イノベーション」、③「カルノシン酸高含有セージの栽培法確立による医薬品イノベーション」の3つのプロジェクトで成り立つ。</p>				
②平成30年度の実施目標及び実施計画	<p>目標:①表現型を指標として分類した尾上菜各系統内の個体間の遺伝的相同性を調べると共に、各系統内に存在する自家不和合性を制御するS遺伝子型についても解析を行う。 ②アイスプラントに含まれる脂肪代謝促進物質や抗炎症活性を持つ化合物を実際にアイスプラントからカラムクロマトグラフィなどを駆使して精製し、これら物質の構造解析を行う。 ③各種セージやローズマリーがカルノシン酸を高蓄積する条件を確定すると共に、この条件で栽培した植物体におけるメタボロームやトランスクリプトームによりカルノシン酸生合成や代謝経路について解析する。同時に未だ確立されていないセージの組織培養を目指し、脱分化と再分化系の確立も目標とする。</p> <p>実施計画:①尾上菜の系統解析と生理活性の評価 ・表現型を指標として分類した尾上菜各系統内の個体を、本学に既設の次世代シーケンサーを用いた全ゲノム解析または系統間差異の大きい領域の解析を行う。得られたデータに基づいて表現型と遺伝子型との相関などについて本学で開発した新たなアルゴリズムなどを駆使して調べる。 ・アブラナ科植物の自家不和合性は雌しべ側因子であるSRKと雄しべ側因子であるSP11の配列特異的な結合とタンパク質リン酸化によって制御されていることが知られている。そこで、次世代シーケンサーで得られた全ゲノムデータからこれら二つの遺伝子の配列を調べ、各個体のS遺伝子型を同定し、その遺伝子型に依存した自家不和合性を交雑により確認する。 ②アイスプラントに含まれる生理活性の評価 ・アイスプラントに含まれる脂肪代謝促進物質と抗炎症活性物質の精製を引き続き行う。精製物の構造解析については、本申請研究で購入予定のオービトラップ質量分析系と共に、本学既設のNMRやイオントラップ型MS/MS、GC-MSなどを用いることで可能である。また、活性物質を多く含む栽培条件と通常の栽培条件で栽培したアイスプラントにおける各遺伝子の発現量をRNA-seq解析により明らかにし、この物質の蓄積に関わる遺伝子を同定する。 ③カルノシン酸高含有セージの栽培法確立 ・カルノシン酸高蓄積に関わる遺伝子の発現量を指標としたカルノシン酸高蓄積栽培条件の検討を新たに行う。 ・各条件で栽培したローズマリーやセージにおける代謝産物のプロファイリングをオービトラップ質量分析計によるメタボローム解析と統計的な解析によって調べる。同時に、各条件で栽培した植物種の遺伝子発現についてRNA-seqによって明らかにし、カルノシン酸の代謝経路とカルノシン酸蓄積の律速酵素に関する解析を行う。 ・カルノシン酸の生合成遺伝子の高発現株や代謝遺伝子のノックアウト株等を作製することも考え、これらセージにおける脱分化と再分化、組織培養法などについて検討する。</p>				

<p>③平成30年度の事業成果</p>	<p>①「フレキシブル植物工場システムを用いた伝承野菜である尾上菜の系統解析と生理活性の評価による植物イノベーション」 尾上菜は自己の花粉では受精できない自家不和合性であることが判明したので、14ラインにおいて自家不和合性を制御するS遺伝子型を決定すると共に、それぞれのS遺伝子座において連鎖している花粉側因子S-locus protein11 (SP11)と雌ずい側因子S-receptor kinase (SRK)をコードする各遺伝子の配列を明らかにした。次に、同定した各S遺伝子型の株を蕾受粉することによって各S遺伝子型ホモ接合体の作製を試み、3系統のS遺伝子型ホモ接合体を得ることができた。このホモ接合体を利用することで、F1ハイブリッドを作製する準備が整った。もう一つの伝承野菜である伊吹大根は自家和合性であることを自殖実験や花柱への花粉管の侵入などによって明らかにした。伊吹大根の花成条件を検討し、年3回ほど種子を得ることができる栽培条件を確立したので、自殖を繰り返すことで、ニアアイソジェニックラインを複数ライン作製した。これにより、伊吹大根についてもF1ハイブリッドを作製する準備が整った。 また、この尾上菜と伊吹大根の全ゲノム解析を行うことで、世界で初めて尾上菜と伊吹大根の全ゲノム配列を決定することができた。</p> <p>②「フレキシブル植物工場で栽培したアイスプラントに含まれる生理活性の評価による食品イノベーション」 フレキシブル植物工場で栽培したアイスプラントを凍結乾燥した後、各溶媒で抽出したところ、50%メタノール抽出画分にヒトの脂肪代謝促進を制御する核内受容体であるペルオキシソーム増殖活性化受容体<math>\alpha</math> (PPAR<math>\alpha</math>)を活性化する物質が含まれていることを明らかにした。そこで、この50%メタノール抽出画分をマウスに投与したところ、脂肪肝の予防に効果があることが新たに明らかになった。次に、活性が存在した50%メタノール抽出画分をXAD-7 HP担体を用いた吸着クロマトグラフィーでさらに精製を行ったところ、10%エタノール溶出画分にPPAR<math>\alpha</math>活性化物質が存在していた。これまでのクロマトグラフィーや溶媒抽出の挙動からPPAR<math>\alpha</math>活性化物質は比較的親水性の高い有機物質である可能性が考えられたので、逆相HPLCでさらに精製し、各画分のPPAR<math>\alpha</math>活性化能について調べた。</p> <p>③「カルノシン酸高含有セージの栽培法確立による医薬品イノベーション」 セージの形質転換系を確立するために、土壌栽培したローズマリーとホワイトセージ、クラリセージ、コモンセージからリーフディスクを作製し、様々な培地での脱分化条件を検討したところ、すべての植物から脱分化したカルスの作出に成功した。そこで、このカルスをオーキシンやサイトカイニンなどの植物ホルモンを様々な濃度で含む培地に移し再分化を検討したが、いずれの植物の再分化体は得られなかった。そこで、無菌栽培したクラリセージの主軸を節ごとに切り出し、20%スクロース含有1/2MS培地に静置して16時間明期、8時間暗期条件、23℃で培養したところ、不定芽、不定根の誘導が確認され、再分化個体を得ることができた。次に、クラリセージの切り出した主軸にGFP遺伝子を導入したアグロバクテリウムを感染させたところ、節間部分においてGFP蛍光を持つ細胞が確認された。また、アイスプラントについても脱分化条件を決定することができた。</p>
<p>④平成30年度の自己点検・評価及び外部評価の結果</p>	<p>(自己点検・評価) 本ブランディング事業において平成30年度に予定していた研究はほぼ全て遂行した。さらに、次年度以降に予定していた尾上菜と伊吹大根の全ゲノム解析を行い、尾上菜と伊吹大根の全ゲノム配列を世界で初めて明らかにすることができたのは大きな成果である。また、尾上菜の自殖法を開発し、S遺伝子型のホモ接合体を得ることができ、本来なら5年目に行う予定だったF1ハイブリッドの作製を次年度に開始できるようになった。さらに伊吹大根についても、花成条件を確立することで、1年に3回種子が得られる系を確立し、F1ハイブリッドを作成できる準備が整った。以上のことから、平成30年度の研究は研究計画を前倒して開始し、大きな成果を得ることができた。</p> <p>(外部評価) 本ブランディング事業の2年目研究では、非常に大きな成果が得られていると評価できる。本ブランディング事業は次年度で打ち切りとなるが、なんとか資金を集めて継続してほしい。アブラナ科の自家不和合性を2年で克服し、ホモ接合体を作ったことは賞賛に値する。本事業は、滋賀県湖北地域に直接的に貢献できる数少ない研究であるので、どうか継続できるような体制を作ってほしい。一方、これまでの成果の広報が、新聞やテレビが主なので、本研究によって得られた成果を誰に向けて発信していくのか、どのような手段が一番良いのかについてもこれから考えてほしい。この2年の研究で、商品化についても見えてきたので、自治体と連携しふるさと納税の返礼品などに使うことなどにより普及方法についても考えてほしい。どちらにしても、この研究を3年で終了せざるを得ないのは本当に惜しい。</p>
<p>⑤平成30年度の補助金の使用状況</p>	<p>機器備品費: メディカルフリーザー、3段式栽培棚、示差屈折率検出器等          消耗品費: 各種試薬、実験器具、栽培用品等          人件費謝金: 本事業研究補助者の雇用等          広報費: 高校進路講演用冊子への本事業紹介</p>